

iPSC-hDPSC | 300622

Obecné informace

Description

Buněčná linie iPSC-hDPSC představuje špičkový model odvozený z lidských kmenových buněk zubní dřeně (hDPSC). Tyto buňky pocházejí z tkáně zubní dřeně, kde se podrobí enzymatickému štěpení, aby se izolovala adherentní frakce. Po dosažení 70-80% konfluence jsou buňky subkultivovány a kryokonzervovány ve stádiu 1. Tento základní krok má zásadní význam pro zachování buněčné integrity a zajištění životaschopnosti kmenových buněk pro budoucí použití.

Významným pokrokem je přeprogramování hDPSC na indukované pluripotentní kmenové buňky (iPSC), kterého bylo dosaženo pomocí techniky epizomálního přeprogramování. Tato metoda využívá vektory, které obsahují faktory Yamanaka - Oct-4, Sox-2 a Klf-4 - spolu s p53 Anti-sense, EBNA-1 a markerem červeného fluorescenčního proteinu. Epizomální přístup je obzvláště výhodný, protože se vyhýbá integraci reprogramovacích faktorů do genomu, čímž se zachovává genetická stabilita iPSC. Výsledná linie iPSC-hDPSC vykazuje pluripotentní vlastnosti, což z ní činí cenný nástroj pro výzkum v oblasti regenerativní medicíny, modelování nemocí a objevování léčiv.

Organism

Člověk

Tissue

Třetí molár

Disease

Normální dárce

Applications

Modelování nemocí, objevování léčiv a testování toxicity, regenerativní medicína, genetický výzkum, studie vývojové biologie

Charakteristika

Ethnicity

Kavkazský

Morphology

IPSC, kolonie s definovanými okraji

Cell type

Kmenové buňky

Growth properties

Adherentní

Regulační údaje

Citation

iPSC-hDPSC (katalogové číslo Cytion 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7DW

GMO Status GMO-S1: Tato linie lidských iPSC (iPSC-hDPSC) obsahuje epizomální plazmidy kódující OCT4, SOX2, KLF4 a c-MYC, které podporují reprogramování dentálních stromálních buněk. Konstrukty jsou udržovány bez virových sekvencí. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích.

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium mTESR

Dissociation Reagent ReLeSR

Subculturing

Chcete-li zlepšit proces oddělování a opětovného osazování buněk, postupujte podle následujících kroků:

1. Odstraňte použité médium a opláchněte buňky PBS (bez vápníku a hořčíku).
2. Přidejte oddělovací roztok a nechte jej působit podle pokynů výrobce.
3. Opatrně přidejte k buňkám čerstvé médium.
4. Jemně buňky oddělte, aby došlo k jejich minimálnímu poškození.
5. Potáhněte čerstvou šestijamkovou kultivační destičku vitronectinem a disociované buňky nasadte do dvou jamek pro další kultivaci.

Seeding density

Pro zajištění optimálního růstu buněk a konzistence experimentu se doporučuje použít hustotu výsevu 5 000 až 10 000 buněk/cm², jakmile se buňky přizpůsobí kultivačním podmínkám.

Fluid renewal Denně

Post-Thaw Recovery Rychle

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme 80 % FBS + 10 % bazálního média + 10 % DMSO pro udržení životaschopnosti nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100) pro vynikající kryoprotekci, která zabraňuje nežádoucí diferenciaci a zároveň zachovává pluripotenci a buněčnou integritu.

iPSC-hDPSC | 300622

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.